

Title	LRRC8 involved in B cell development belongs to a novel family of leucine-rich repeat proteins
Author(s)	岡田, 恵子
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46182
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 おか だ けい こ
岡 田 恵 子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19723 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 6 月 30 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学 位 論 文 名 LRRC8 involved in B cell development belongs to a novel family of
leucine-rich repeat proteins
(B 細胞分化に関与する LRRC8 はロイシンリッチリピート蛋白の新規ファミ
ミリーに属する)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 大 菌 恵一

(副査)

教 授 金 倉 謙 教 授 戸 田 達史

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

以前われわれは、先天性無ガンマグロブリン血症、末梢血 B リンパ球欠損および顔面小奇型を有する女兒の染色体均衡転座部位から、LRRC8 (leucine-rich repeat-containing 8) という新規遺伝子を同定した。LRRC8 蛋白は、810 アミノ酸からなり、細胞外に leucine-rich repeat (LRR) を持つ膜貫通型蛋白であった。各種検証から B 細胞分化に関与する可能性が示唆された。

LRR を有する蛋白 (LRR 蛋白) の中には、ホルモンレセプターや、細胞接着、さらには胎児期早期の発達や神経発達に関わっているものがあり、これらは LRR ドメインを介した protein-protein interaction によるとされている。したがって、LRRC8 も B 細胞分化に必須なリガンドを有する可能性がある。あるいは、LRRC8 に機能的・構造的に類似する蛋白は、免疫系で重要な働きを持つ分子の候補となりうる。そこで今回われわれは、バイオインフォマティクスと実験室的手法を用いて、LRRC8 と相同性を有する遺伝子を検索・同定し、蛋白構造の予想、ヒト臓器や活性化リンパ球での発現形式を解析したので報告する。

〔 方 法 〕

①データベース検索およびコンピューター解析

LRRC8 と相同性の高い遺伝子の同定は、LRRC8 蛋白配列を用い、NCBI 蛋白データベースから、BLASTp にて検索した。各遺伝子のゲノム構造は、Human Genome Project Working Draft データベースから、BLAT にて検索した。マウスでも同様の検索を行った。各蛋白の有するドメイン、膜貫通部位、蛋白二次構造はそれぞれ Protein families database of alignment and HMMs、TMHMM Server v. 2.0、および PSIPRED protein structure prediction server にて予測した。

②半定量 RT-PCR 法による mRNA 発現解析

ヒト正常臓器における、各遺伝子の mRNA 発現形式は、Multiple Tissue cDNA Panel (Clontech 社) を用い、半定量 RT-PCR 法にて解析した。また、ヒト正常末梢血から単核球・単球を単離し、単核球は PHA もしくは PMA

で、単球は LPS で刺激したのちに mRNA を抽出し、半定量 RT-PCR 法にて mRNA 発現量の経時的变化を解析した。

[成 績]

①BL-ASTp および RT-PCR により、LRRC8 と相同性を有する遺伝子として、TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420 という 4 個の遺伝子が同定された。これらの遺伝子はすでにデータベース上名前を有したが、機能は未知であった。マウスでも同様に、mLRRC8、mTA-LRRP、mAD158、mLRRC5、mFLJ23420 を同定した。ヒトの TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420 遺伝子は、それぞれ 803、803、858、444 アミノ酸からなる蛋白をコードしていると予想された。LRRC8 を含めたこれら 5 個の予想蛋白は、C 末の細胞外領域に 16 個の LRR を有し、(FLJ23420 以外は) 膜貫通部位を 4 個持っていた。構造は極めて類似しており、細胞外領域では LRR 部位に限らず高い相同性を有していた。しかし細胞内領域は相同性も低く、機能的ドメインも存在しなかった。マウスオルソログも同様の構造であった。また、TA-LRRP、AD158、LRRC5 は、ヒト・マウスともに染色体上 (それぞれ 1p22.2、chr. 5) で遺伝子クラスターを形成していた。

②半定量 RT-PCR 法により、LRRC8、TA-LRRP、AD158、LRRC5 は骨格筋以外のほぼ全ての臓器で mRNA 発現を認めた。PHA 刺激単核球では、LRRC8 の mRNA 発現量が次第に減少したのに対し、TA-LRRP、LRRC5、AD158 は発現が誘導された。LPS 刺激単球では、LRRC8 の発現が抑制されたのに対し、LRRC5 の発現が誘導された。

[総 括]

LRRC8、TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420 は、その相同性の高さから、LRR 蛋白のスーパーファミリーの中でも新規ファミリーに属していると考えられ、LRRC8 ファミリーと名付けた。その予想蛋白構造から、細胞外の protein-protein interaction に関与していると思われる。また TA-LRRP、AD158、LRRC5 は、リンパ球や単球の増殖および活性化に関係していることが示唆された。これら 3 遺伝子は、染色体上でクラスターを形成していることから、LRRC8 とは異なる機能を有する可能性がある。

LRR 蛋白の特徴から、LRRC8 ファミリーは分化、増殖、細胞接着などに関わる新たな分子群である可能性があり、今後これらの機能やリガンドなどが明らかとなれば、免疫系における新たな知見が得られるかもしれない。

論文審査の結果の要旨

以前筆者らは、先天性無ガンマグロブリン血症の女兒の解析から LRRC8 という新規遺伝子を同定し、LRRC8 蛋白は、B 細胞分化に関与する分子である可能性を報告した。本報告では、LRRC8 と相同性を有する遺伝子として、TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420 という 4 個の役割未知の遺伝子を同定した。LRRC8 を含めたこれら 5 個の遺伝子がコードする蛋白の予想構造は、互いに非常に類似しており、ヒトとマウス間でもよく保存されていた。予想される 5 つの蛋白は、すべて細胞外領域に 16 個のロイシンリッチリピートを有しており、FLJ23420 を除く 4 つの蛋白は、4 つの膜貫通領域を有していた。これらの特徴から、ロイシンリッチリピート蛋白のスーパーファミリーの中でも新規ファミリーに属していると考えられ、LRRC8 ファミリーと名付けられた。TA-LRRP、AD158、LRRC5 はリンパ球や単球の増殖および活性化に関係していること、LRRC8 とは異なる働きを有している可能性が示唆された。

LRRC8 ファミリーが免疫系の未知の分子群であることを示し、さらなる機能解析により免疫系の新たな知見が得られる可能性を示した本論文は、学位に値するものと考ええる。